

## **Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi *Newcastle Disease* dan *Egg Drop Syndrome***

### ***Immune Response of Layer Against Newcastle Disease and Egg Drop Syndrome Vaccines***

**Gusti Ayu Yuniati Kencana<sup>1</sup>, I Nyoman Suartha<sup>2</sup>, Daniel Raja Bonar Nainggolan<sup>3</sup>,  
 Agatha Serena Lumban Tobing<sup>3</sup>,**

<sup>1</sup>Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

<sup>2</sup>Laboratorium Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

<sup>3</sup>Program Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

Email: yuniatikencana@gmail.com, yuniati\_kencana@unud.ac.id

#### **Abstract**

Some viral diseases in poultry could lead to huge losses to the farmers. Newcastle Disease (ND) and Egg Drop Syndrome (EDS) are a group of infectious viral disease that can cause the decrease in egg production. Newcastle Disease is caused by Avian paramyxovirus type 1 (PMV-1) Paramyxoviridae family. The causative agent of EDS is Duck adenovirus-I Adenoviridae family. Both of these diseases affect the economic losses to the poultry. The main action to prevent hens from ND and EDS virus diseases is vaccination. The success of vaccination can be tested by serology. ND and EDS virus characteristically agglutinate hen's erythrocyte they have Hemagglutinine protein on virus envelope so can be tested by hemagglutination. The study was conducted on a commercial poultry farm in order to determine the success of vaccination against ND and EDS. The hens were vaccinated by Newcastle Disease-Infectious Bronchitis- Egg Drop Syndrome (ND-IB-EDS) inactivated vaccines. Serological test was conducted in pre and post vaccination by using microtiter hemagglutination test. The antibody titre is expressed in units of HI log<sub>2</sub>. The results of the study, the mean antibody titer against ND pre vaccination was  $4,53 \pm 1,356$  HI log<sub>2</sub> and antibody titre in 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> week were  $8,67 \pm 0,617$  HI log<sub>2</sub>,  $7,73 \pm 1,335$  HI log<sub>2</sub> and  $5,20 \pm 0,862$  HI log<sub>2</sub> post vaccination. Antibody titre against EDS pre vaccination was  $0 \pm 0,000$  HI log<sub>2</sub> and antibody titre post vaccination in 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> week were  $7 \pm 1,363$  HI log<sub>2</sub>,  $7,27 \pm 1,438$  HI log<sub>2</sub> and  $7,6 \pm 1,056$  HI log<sub>2</sub>. It showed that ND-IB-EDS inactivated vaccines is serological protective for ND and EDS titres.

**Keywords:** *Newcastle Disease, Egg Drop Syndrome, ND-IB-EDS inactivated vaccines, serology.*

#### **Abstrak**

Beberapa penyakit virus pada unggas dapat menyebabkan kerugian yang sangat besar pada peternak. Penyakit *Newcastle Disease* (ND) dan penyakit *Egg Drop Syndrome* (EDS) adalah kelompok penyakit virus menular yang dapat mengakibatkan penurunan produksi telur. Penyakit ND disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus* tipe 1 (APMV-1) familia *Paramyxoviridae*. Agen penyebab penyakit EDS adalah *Duck Adenovirus* familia *Adenoviridae*. Kedua penyakit tersebut berdampak terhadap kerugian ekonomi pada peternakan ayam. Tindakan utama untuk mencegah penyakit ND maupun EDS dengan vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi dapat diuji secara serologi. Virus ND dan EDS dapat mengaglutinasi eritrosit ayam karena mempunyai protein hemagglutinin pada amplop virus sehingga dapat diuji dengan uji hemagglutinasasi dan hambatan hemagglutinasasi. Penelitian dilakukan pada peternakan ayam petelur komersial guna mengetahui keberhasilan vaksinasi terhadap ND dan EDS. Ayam divaksinasi dengan vaksin *Newcastle Disease-Infectious Bronchitis-Egg Drop Syndrome* (ND-IB-EDS) inaktif. Uji serologi dilakukan pra dan pascavaksinasi menggunakan uji hemagglutinasasi teknik mikrotiter.

Titer antibodi dinyatakan dengan satuan HI log<sub>2</sub>. Hasil penelitian menunjukkan rerata titer antibodi ND pravaksinasi sebesar  $4,53 \pm 1,356$  HI log<sub>2</sub>, sedangkan titer antibodi pascavaksinasi minggu ke-2 sebesar  $8,67 \pm 0,617$  HI log<sub>2</sub>, minggu ke-3 sebesar  $7,73 \pm 1,335$  HI log<sub>2</sub> dan minggu ke-4 sebesar  $5,20 \pm 0,862$  HI log<sub>2</sub>. Rerata titer antibodi EDS pravaksinasi sebesar  $0 \pm 0,000$  HI log<sub>2</sub>, sedangkan pada minggu ke-2, 3 dan 4 pascavaksinasi masing-masing sebesar  $7 \pm 1,363$  HI log<sub>2</sub>,  $7,27 \pm 1,438$  HI log<sub>2</sub> dan  $7,6 \pm 1,056$  HI log<sub>2</sub>. Disimpulkan bahwa secara serologi vaksin inaktif ND-IB-EDS mampu menghasilkan titer antibodi ND dan EDS yang protektif

**Kata kunci:** *Newcastle Disease*, *Egg Drop Syndrome*, vaksin ND-IB-EDS inaktif, serologi.

## Pendahuluan

*Newcastle Disease* (ND) adalah penyakit virus unggas penting yang dapat mengakibatkan kerugian besar pada peternakan ayam (Orsi *et al.*, 2010). Penyakit ND mengakibatkan kerugian ekonomi sangat besar yang ditemukan hampir di seluruh peternakan ayam (Aldous *et al.*, 2003). Gejala penyakit ND ditandai dengan kelainan pada saluran pernapasan, saluran pencernaan dan sistem saraf pusat. Tanda klinis penyakit ND tergantung pada strain virus, spesies inang, umur inang, lingkungan dan status kekebalan ayam (Al-Habeeb *et al.*, 2013). Pada ayam, gejala ND secara umum adalah hilangnya nafsu makan, lesu, penurunan produksi telur, radang trakea dan radang konjungtiva (Ashraf and Shah, 2014). Penyakit ND dapat menginfeksi berbagai spesies burung domestik dan liar, namun tingkat keparahan penyakit sangat bervariasi, mulai dari penyakit perakut dengan tingkat mortalitas hampir 100% sampai penyakit subklinis tanpa lesi (Cattoli *et al.*, 2011). Berdasarkan virulensinya, virus ND dikelompokkan menjadi 3 galur, yaitu: velogenik, mesogenik dan lentogenik. Alexander and Senne (2008<sup>b</sup>) mengelompokkan bahwa berdasarkan atas gejala klinisnya ada lima patotipe virus ND yakni *viscerotropic velogenic*, *neurotropic velogenic*, *mesogenic*, *lentogenic* atau *respiratoric* dan tipe *asymptomatic*.

Di Indonesia penyakit ND dikenal dengan sebutan penyakit *Tetelo*, sedangkan di Bali dikenal dengan penyakit *gerubug*. Kejadian penyakit ND bersifat akut sampai kronis, dapat menyerang semua jenis unggas terutama ayam, baik ayam ras maupun ayam bukan ras (buras). Kasus ND merupakan ancaman yang serius bagi industri peternakan unggas di Indonesia karena ND bersifat endemik. Wabah ND pertama kali terjadi di Jawa (Indonesia) tahun 1926 (Saliu *et al.*, 2009; Moomivand *et al.*, 2013). Penyakit *Newcastle Disease* disebabkan oleh virus *Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1) (OIE, 2012).

Virus ND mempunyai sifat spesifik yakni dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam, hal ini terjadi akibat adanya protein yang terdapat pada amplop virus yang disebut hemaglutinin. Proses terjadinya hemaglutinasi karena adanya ikatan antara hemaglutinin virus ND dengan reseptor sel, yaitu mukoprotein yang terdapat pada permukaan eritrosit (OIE, 2012).

*Egg Drop Syndrome* (EDS) disebabkan oleh *duck adenovirus-1* genus *Atadenovirus* familia *Adenoviridae* (Salihu *et al.*, 2010; Hafez, 2011), merupakan penyebab utama penurunan produksi telur yang pada unggas dan dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang parah (Begum *et al.*, 2013). Ayam terserang penyakit EDS terutama terjadi pada saat puncak produksi. Kasus EDS dilaporkan telah

terjadi di beberapa peternakan ayam ras petelur di Bali, sedangkan di Kupang pernah bersifat mewabah (Ditjennak, 2014). Penularan penyakit EDS dapat terjadi secara vertikal maupun horizontal (Suresh *et al.*, 2013). Unggas yang terinfeksi EDS menunjukkan beberapa gejala klinis diantaranya adalah: kerabang telur yang lembek, perubahan bentuk telur dan hilangnya warna kerabang atau kerabang telur menjadi lebih pucat (Badar *et al.*, 2006). Virus EDS dapat ditularkan melalui udara tercemar, tumbuh di epitel permukaan rongga hidung kemudian diikuti dengan viremia dan antigen dapat terdeteksi di jaringan limfoid (Hafez, 2011). Unggas yang terinfeksi virus EDS menyebabkan ovarium menjadi tidak aktif, kemudian terjadi atrofi pada *oviduct* dan *uterus* sehingga mempengaruhi produksi dan kualitas telur (CFSPH, 2006; Ibrahim *et al.*, 2011).

Pengobatan yang efektif untuk infeksi virusND maupun EDS belum ada. Strategi utama yang dapat dilakukan untuk mencegah munculnya penyakit ND maupun EDS adalah dengan vaksinasi dan peningkatan biosekuriti. Sejauh ini program pencegahan terhadap penyakit ND di Indonesia sudah dilaksanakan secara intensif, baik menggunakan vaksin aktif maupun vaksin inaktif. Vaksinasi bertujuan untuk memperoleh kekebalan spesifik yang protektif guna menghadapi kasus lapangan (Hewajuli and Dharmayanti, 2015; Kencana *et al.*, 2015). Penggunaan vaksin aktif maupun inaktif tunggal maupun kombinasi telah diterapkan secara luas pada peternakan unggas (Kencana, *et al.*, 2015; Kencana *et al.*, 2016; Wibowo *et al.*, 2010). Adanya perkembangan kasus penyakit viral yang terjadi secara bersamaan pada peternakan ayam petelur serta untuk meningkatkan efisiensi dalam pemberian vaksin maka digunakanlah vaksin kombinasi.

Vaksin EDS yang tersedia umumnya adalah vaksin inaktif sediaan tunggal maupun kombinasi. Penggunaan vaksin kombinasi sangat menguntungkan bagi peternak karena efisiensi waktu dan lebih ekonomis jika dibandingkan dengan pemberian vaksin tunggal. Keuntungannya karena vaksin kombinasi dapat diberikan sekaligus untuk mencegah lebih dari satu penyakit tergantung kombinasinya sehingga menurunkan tingkat stres pada ayam akibat vaksinasi yang berulang.. Penggunaan vaksin kombinasi kadangkala juga dapat mempengaruhi efektivitas vaksin dalam menginduksi pembentukan titer antibodi yang protektif (Cardoso *et al.*, 2005). Hasil penelitian dengan vaksin kombinasi Sanovac ND-AI ternyata mampu merangsang titer antibodi protektif baik pada ayam SPF maupun pada aplikasi lapangan (Kencana *et al.*, 2015; Kencana *et al.*, 2016). Namun demikian perlu pula diketahui bahagaimanakah respons imun ayam petelur terhadap ND dan EDS jika divaksinasi dengan vaksin tiga kombinasi antigen yakni ND-IB-EDS.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons imun ND dan EDS ayam petelur yang divaksin dengan vaksin inaktif kombinasi ND-IB-EDS. Pemeriksaan terhadap titer antibodi pascavaksinasi dilakukan pada minggu ke-2, 3 dan 4. Terjadinya peningkatan titer antibodi ND dan EDS pascavaksinasi diuji dengan uji serologi hemaglutinasi dan hambatan hemaglutinasi (HA/HI) (OIE., 2012).

Penelitian ini merupakan penelitian bersama antara Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan PT Sanbio Laboratories yang merupakan produsen vaksin unggas di Indonesia, berkedudukan di Wanaherang, Gunung Putri, Bogor, Jawa Barat. Dalam upaya pengendalian penyakit ND maupun EDS, maka PT. Sanbio telah

membuat vaksin kombinasi inaktif ND-IB-EDS yang diberi nama vaksin Sanavac ND-IB-EDS dan telah dipasarkan serta banyak digunakan di peternakan komersial. Penelitian ini dilakukan di peternakan ayam petelur komersial di Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali yang merupakan pusat peternakan ayam petelur di Kabupaten Tabanan. Lokasi ini dipilih karena sebelumnya pernah terjadi kasus ND dan kecurigaan terhadap penyakit EDS karena terjadi penurunan produksi yang sangat drastis pada peternakan ayam petelur. Penelitian ini terutama untuk mengetahui respons imun ayam petelur terhadap ND dan EDS. Monitoring terhadap hasil vaksinasi dilakukan untuk mengetahui titer antibodi pascavaksinasi guna mencegah terjadinya kerugian peternak akibat kegagalan vaksinasi.

### **Materi dan Metode**

Sampel penelitian adalah ayam petelur jenis *Isa Brown* yang dipelihara di peternakan komersial milik mitra PT. Sanbio, di Desa Senganan Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali. Berdasarkan catatan vaksinasi, ayam petelur sudah pernah divaksinasi sebelumnya dengan vaksin ND aktif pada umur 3 hari dan diulang pada umur 2 minggu dengan vaksin inaktif. Pada penelitian ini, ayam divaksin untuk ketiga kalinya pada umur 14 minggu yakni menjelang masa bertelur dengan vaksin inaktif kombinasi Sanavac ND-IB-EDS<sup>R</sup>. Vaksin kombinasi ND-IB-EDS yang digunakan memiliki kandungan antigen *Newcastle Disease strain* LaSota  $\geq 10^{9.5}$  EID<sub>50</sub>, *Infectious Bronchitis strain* Massachussets H52  $\geq 10^{6.5}$  EID<sub>50</sub> dan *Egg Drop Syndrome strain*  $\geq 32000$  HAU. Vaksinasi dilakukan dengan cara injeksi intramuskuler (i.m) pada otot paha dengan satu dosis vaksin (volume 0,5 ml)/ekor. Sebanyak

15 ekor ayam dipakai untuk sampel penelitian yang diambil darahnya secara acak, yakni satu kali sebelum vaksinasi dan tiga kali setelah vaksinasi yang diperiksa titer antibodi ND dan EDS. Total sampel serum yang digunakan sebanyak 60 sampel. Keberhasilan vaksinasi dalam merangsang terbentuknya titer antibodi protektif terhadap ND dan EDS dideteksi secara serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Respons antibodi dinyatakan protektif apabila sesuai dengan standar ASEAN, untuk vaksin ND inaktif dan EDS pada ayam apabila memiliki titer antibodi lebih besar dari 16 HI Unit atau 4 HI log<sub>2</sub> (ACFAF, 2012).

Pengambilan darah ayam dengan cara ayam dibaringkan pada posisi rebah dorsal. Selanjutnya darah diambil melalui *vena brachialis* (vena di daerah sayap) dengan menggunakan spuit 3 ml. Daerah tempat pengambilan darah didesinfeksi terlebih dahulu dengan alkohol 70% guna mencegah terjadinya kontaminasi pada saat pengambilan sampel. Darah diambil sebanyak 1 ml, selanjutnya spuit diletakkan secara horizontal selama 1 jam pada suhu ruangan hingga serum keluar, kemudian sampel darah dalam spuit dimasukkan kedalam *cool box* dan diinkubasikan selama 18 jam pada suhu 4°C didalam *refrigerator*. Semua sampel darah dikeluarkan dari *refrigerator*, kemudian serum dipisahkan dari bekuan darah, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Serum ditampung dengan tabung mikro selanjutnya diinaktivasi terlebih dahulu dalam penangas air dengan suhu 56°C selama 30 menit sebelum dilakukan uji serologi. Tujuannya adalah untuk menginaktivkan autohemolisin yang ada dalam serum. Sampel serum yang telah disiapkan selanjutnya diuji dengan uji HI.

Untuk uji HA/HI dibutuhkan eritrosit unggas dengan konsentrasi 1%. Idealnya sel darah merah

ayam diambil dari ayam SPF, namun kalau tidak ada ayam SPF maka cara pembuatan suspensi eritrosit 1% dilakukan sesuai dengan prosedur dari (OIE, 2012) yang telah dimodifikasi. Caranya adalah sebagai berikut: darah ayam diambil sebanyak 2,5 ml dengan menggunakan *disposable syringe* 3 ml yang telah diisi dengan EDTA cair sebanyak 0,5 ml. Sel darah merah selanjutnya dicuci dengan ditambahkan PBS ke dalam larutan darah sampai volume 10 ml lalu dihomogenkan perlahan-lahan agar sel darah merah tidak rusak, kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatan dipisahkan dari endapan sel darah merah lalu ditambahkan PBS sampai volume 2/3 tabung. Proses selanjutnya dilakukan pencucian darah sebanyak tiga kali. Nilai *Packed Cell Volume* (PCV) eritrosit yang telah dicuci selanjutnya dibaca dengan *PCV reader*. Suspensi eritrosit 1% dibuat dengan cara mengencerkan darah yang telah diketahui PCVnya lalu ditambahkan larutan PBS sesuai dengan perhitungan:  $V_1C_1=V_2C_2$ , dimana  $V_1$  adalah volume yang diketahui,  $V_2$  adalah volume yang diketahui,  $C_1$  adalah konsentrasi yang diketahui sedangkan  $C_2$  adalah konsentrasi yang dicari. Setelah didapat nilai konsentarsi sel darah merah 1% maka dilanjutkan pada uji hemaglutinasi (HA/HI).

Uji hemaglutinasi digunakan untuk menguji antigen, selanjutnya untuk mempersiapkan antigen 4 HA unit yang akan digunakan pada uji HI. Teknik uji yang digunakan adalah hemaglutinasi mikrotiter dengan memakai plat mikro berbentuk dasar U 96 sumuran. Pada setiap lubang plat mikro 96 sumuran masing-masing diisi dengan 0,025 mL PBS menggunakan *microdropper*. Suspensi antigen yang akan diuji kemudian ditambahkan pada lubang pertama dan kedua dan selanjutnya dilakukan pengenceran berseri kelipatan dua mulai dari lubang

kedua sampai lubang kesebelas dengan menggunakan *microdiluter*. Sebanyak 0,025 ml PBS ditambahkan pada lubang ke satu sampai dua belas kemudian di *shaker*. Ditambahkan suspensi sel darah merah 0.05 ml ke dalam semua sumuran plat mikro selanjutnya di *shaker* kembali. Plat mikro diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar sambil diamati ada tidaknya reaksi aglutinasi yang ditandai dengan bentukan serupa pasir berwarna merah pada dasar sumuran plat mikro. Titer virus yang diuji dinyatakan sebagai pengenceran tertinggi virus yang masih mampu mengaglutinasi eritrosit 1% secara sempurna (OIE, 2012). Tier 4 unit HA digunakan untuk bahan uji Hambatan Hemagutinasi (HI).

Uji HI diawali dengan cara sebagai berikut: Pada setiap sumuran plat mikro diisi dengan 0,025 ml PBS. Sumuran pertama dan kedua ditambahkan dengan serum yang selanjutnya diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari lubang kedua sampai lubang kesepuluh dengan menggunakan *microdiluter*. Masing-masing 0,025 mL suspensi antigen 4 HA unit ditambahkan ke dalam sumuran pertama sampai kesebelas, sedangkan sumuran keduabelas ditambahkan dengan 0,025 PBS. Plat mikro kemudian di *shaker* selama 30 detik selanjutnyadidiamkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, kedalam sumuran pertama sampai keduabelas ditambahkan 0,05 mL suspensi sel darah merah 1% dan di *shaker* selama 30 detik. Plat mikro selanjutnya diinkubasikan selama 1 jam pada suhu kamar, selanjutnya dibaca setiap 15 menit sampai maksimal satu jam. Titer HI yang diuji dinyatakan sebagai antilog pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu mengaglutinasi eritrosit 1% secara sempurna (OIE, 2012).

Analisis data titer antibodi pravaksinasi dan pascavaksinasi dihitung rataannya per periode

pengambilan serum dan dinyatakan dalam HI log<sub>2</sub>. Data titer antibodi yang diperoleh setiap minggunya dianalisis menggunakan uji sidik ragam *Univariate* dilanjutkan dengan uji Duncan dan uji regresi menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 17 for windows*.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan titer antibodi *Newcastle Disease* dan *Egg Drop Syndrome* ayam petelur yang divaksin ND-IB-EDS inaktif dimuat pada Tabel 1. Rerata titer antibodi HI pravaksinasi dan pascavaksinasi dihitung dan dinyatakan dengan satuan HI log<sub>2</sub>.

Tabel 1. Rerata titer antibodi ND dan EDS ayam petelur (HI log<sub>2</sub>)

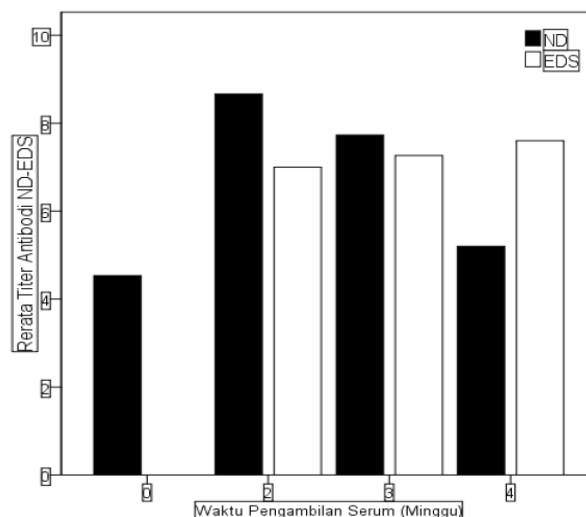
Waktu Pengambilan Sampel (Minggu)	Rerata titer antibodi (HI log <sub>2</sub> )	
	ND	EDS
0	4,53 ± 1,356 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,000 <sup>a</sup>
2	8,67 ± 0,617 <sup>c</sup>	7,0 ± 1,363 <sup>b</sup>
3	7,73 ± 1,335 <sup>b</sup>	7,27 ± 1,438 <sup>b</sup>
4	5,20 ± 0,862 <sup>a</sup>	7,60 ± 1,056 <sup>b</sup>

Keterangan : Huruf (superskrip) yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01), sebaliknya huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05).

Hasil pemeriksaan rerata titer antibodi ND dan EDS pada minggu ke-0 (pravaksinasi) ayam petelur masing-masing adalah 4,53 HI log<sub>2</sub> dan 0 HI log<sub>2</sub>. Titer antibodi tersebut menunjukkan bahwa ayam petelur masih memiliki kekebalan protektif terhadap ND namun titer antibodi EDS tidak protektif. Oleh karena itu perlu dilakukan

vaksinasi guna meningkatkan daya proteksi spesifik terhadap ND dan EDS guna mencegah terinfeksi kasus lapangan. Pemeriksaan titer antibodi ND dan EDS pravaksinasi bertujuan untuk mengkonfirmasi titer antibodi pada ayam petelur. Titer antibodi yang tinggi pada saat divaksinasi akan dapat menetralsir antigen vaksin yang digunakan sehingga menyebabkan berkurangnya respons terhadap vaksin yang diberikan dan dapat mengakibatkan kegagalan vaksinasi (Kencana *et al.*, 2016).

Respons antibodi ayam terhadap vaksin ND dan EDS pascavaksinasi dapat diuji secara serologis dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Uji diagnostik ini yang paling banyak dilakukan di dunia, karena mampu mendeteksi respons antibodi terhadap glikoprotein virus ND (OIE., 2012; WHO., 2009). Deteksi antibodi terhadap EDS juga diuji dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) (Bidin *et al.*, 2007). Uji HI sering dipilih untuk mendiagnosis penyakit ND karena cepat, murah dan akurat (Badar *et al.*, 2006). Rataan titer antibodi ND dan EDS ayam petelur pra dan pascavaksinasi dimuat pada Gambar 1



Gambar 1. Titer antibodi ND dan EDS ayam petelur pada pengambilan serum pravaksinasi (minggu ke-0) dan minggu ke- 2, 3, 4 pascavaksinasi

Rataan titer antibodi ND pascavaksinasi adalah sebesar  $4,53 \pm 1,356$  unit HI log<sub>2</sub>, titer ini meskipun masih tergolong protektif namun berada pada ambang batas bawah. Hal ini disebabkan karena masih adanya rangsangan antigen vaksin dalam membentuk respons imun, tetapi berada di bawah ambang batas titer protektif ND (4 HI log<sub>2</sub>) sehingga dibutuhkan vaksinasi ulangan (*booster*) untuk merangsang kembali respons imun terhadap ND. Sementara itu, rata-rata titer antibodi EDS pada minggu ke-0 adalah 0 HI log<sub>2</sub>. Hal ini disebabkan karena belum ada rangsangan antigen vaksin EDS sebelumnya karena vaksinasi EDS baru pertama kali diberikan pada umur 14 minggu.

Pada minggu ke-2 pascavaksinasi titer antibodi ayam terhadap ND dan EDS mengalami peningkatan yang sangat signifikan 8,67 HI unit log<sub>2</sub> dan 7 HI unit log<sub>2</sub>. Hasil penelitian terdahulu dengan vaksin Sanovac ND-AI menunjukkan keberhasilan vaksinasi dengan terbentuknya titer antibodi protektif pada 2 dan 3 minggu pascavaksinasi (Kencana *et al.*, 2015). Pembentukan titer antibodi pada saat vaksinasi ulangan (*booster*) lebih cepat dibandingkan pada vaksinasi pertama, hal ini diakibatkan karena terbentuknya sel memori setelah vaksinasi pertama yang mempercepat respons antibodi pada vaksinasi ulangan (Kencana *et al.*, 2016). Sel T memori segera mengenali antigen yang pernah terpapar sebelumnya dan membantu sel B untuk berproliferasi dan menghasilkan sel plasma, yang kemudian akan membentuk antibodi. Pada penelitian ini respons imun yang terbentuk kemungkinan disebabkan karena dua hal yaitu akibat pernah terpapar virus ND maupun EDS pada infeksi alami yang sifatnya subklinis. Kemungkinan kedua adalah akibat vaksinasi ND-IB-EDS pada umur 14 minggu.

Pada minggu ke-3 pascavaksinasi, titer antibodi ND adalah 7,73 HI log<sub>2</sub>. Titer tersebut mengalami penurunan, meskipun demikian secara serologi masih tergolong titer antibodi yang protektif. Pada minggu ke-3 rata-rata titer antibodi EDS adalah 7,27 HI unit log<sub>2</sub>. Pada pemeriksaan sampel minggu ke-4 titer antibodi ND sebesar 5,20 HI unit log<sub>2</sub> (titer antibodi menurun) namun masih tergolong batasan titer protektif. Rataan titer EDS minggu ke-4 pascavaksinasi tidak meningkat nyata ( $P > 0,05$ ) tetapi masih di atas batas nilai ambang protektif. Adanya peningkatan titer antibodi yang berlangsung lambat terjadi karena kandungan *adjuvant* dalam vaksin inaktif sehingga dapat memperlambat proses pelepasan antigen dalam tubuh dalam merangsang pembentukan kekebalan. Adjuvant berfungsi untuk membantu meningkatkan respons seluler atau humoral terhadap antigen (Aiyer *et al.*, 2013). Pada minggu tertentu terjadi penurunan titer yang disebabkan oleh waktu paruh antibodi. Waktu paruh antibodi adalah waktu yang diperlukan titer antibodi berkurang menjadi setengah dari titer antibodi puncak (Kencana *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil uji serologi, rata-rata titer antibodi hasil vaksinasi dengan vaksin ND-IB-EDS tergolong titer antibodi yang protektif karena lebih besar dari 2<sup>4</sup> HI unit. Pemeriksaan serum hendaknya rutin dilakukan pascavaksinasi dengan tujuan untuk mengetahui respons imun ayam terhadap vaksin yang diberikan. Disamping itu besarnya titer antibodi pascavaksinasi juga menunjukkan potensi vaksin yang digunakan (Kencana *et al.*, 2015). Tingkat homologitas antara virus vaksin dengan virus lapangan dipercaya sangat mempengaruhi keberhasilan vaksinasi

(Cho *et al.*, 2008). Perbedaan tingkat respons antibodi pascavaksinasi pada ayam dapat dipengaruhi oleh beberapa aspek diantaranya: kemungkinan adanya perbedaan sifat antigenik dari virus vaksin yang digunakan, kualitas antigen, serta kandungan komposisi *adjuvant* (Indriani *and* Dharmayanti, 2013). Penelitian terhadap titer antibodi ND-EDS pascavaksinasi dengan vaksin kombinasi inaktif ND-IB-EDS sangat diperlukan untuk mengetahui potensi vaksin dalam memicu kekebalan protektif pada ayam petelur di lapangan. Upaya ini dilakukan guna mencegah terjadinya kegagalan vaksinasi yang dapat merugikan peternak. Hasil analisis rerata titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi dengan vaksin kombinasi ND-IB-EDS ternyata mampu merangsang pembentukan respons imun protektif terhadap ND maupun EDS, sedangkan pemeriksaan titer antibodi IB pada penelitian ini tidak dilakukan. Mayahi *et al* (2013) melaporkan bahwa vaksin aktif ND-IB mampu merangsang pembentukan titer antibodi pada ayam pedaging. Periode pengambilan sampel berpengaruh terhadap tinggi rendahnya titer antibodi ND maupun EDS pascavaksinasi. Perlu diperhatikan pula bahwa penggunaan vaksin secara extensive dapat menyebabkan terjadinya modifikasi genetik terutama virus yang sifatnya patogenik (Ashraf *and* Shah., 2014).

### Kesimpulan

Hasil analisis rerata titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi dengan vaksin ND-IB-EDS ternyata secara serologi mampu merangsang terbentuknya titer antibodi protektif t ND maupun EDS. Vaksin kombinasi ND-EDS-IB aman digunakan dilapangan untuk vaksinasi ayam petelur. Perlu juga diperhatikan

agar titer antibodi ayam petelur sebelum divaksinasi tidak sampai nol karena ayam sangat riskan tertular penyakit ND maupun AI. Sebaliknya titer antibodi yang tinggi pada vaksinasi juga tidak disarankan, karena akan mengakibatkan terjadinya netralisasi terhadap vaksin yang diberikan. Perlu juga dilakukan penelitian terhadap titer antibodi IB pada ayam petelur

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT Sanbio Laboratories atas segala fasilitas dan kerjasama penelitian, serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- (ACFAF) ASEAN Cooperation in Food, Agriculture and Forestry. 2012. ASEAN Standards for Animal Vaccines, Second Edition. Livestock Publication Series. <http://www.asean.org/communities/asean-economiccommunity/category/publication-3>. (2 April 2016).
- Aiyer-Harini P., Ashok-Kumar H.G., Kumar GP., Shivakumar N. 2013. An Overview of Immunologic Adjuvants-A Review. *J Vaccines Vaccine* 4(1): 1-4.
- Aldous EW, Mynn JK, Banks J, Alexander DJ (2003). A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *J. Avian Pathol.* 32, 239-256.
- Alexander D.J. and Senne D.A. 2008<sup>b</sup>. Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *In: A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens*, Dufour-Zavala L. (Editor in Chief) Swayne D.E., Glisson J.R., Jackwood



- M.W., Pearson J.E., Reed W.M, Woolcock P.R., 4th ed., American Association of Avian Pathologists, Athens, GA, 135–141.
- Al-Habeeb M.A., Mohamed M.H.A., Sharawi S. 2013. Detection and characterization of Newcastle disease virus in clinical samples using real time RT-PCR and melting curve analysis based on matrix and fusion genes amplification. *Veterinary World* 6(5):239-243.
- Ashraf, A and Shah, M. S. 2014. Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries. *African Journal of Microbiology Research* 8(5): 411-416.
- Badar, S.T., Siddique, M., Ali, R., dan Rasool, M.H. 2006. Serological Status of Egg Drop Syndrome in Breeders and Commercial Layers in Manshera District. *Pakistan vet. J.* 26(1): 33-35.
- Begum, J.A., Chowdhury, E.H., Parvin, R., Matin, M.A., Giasuddin, M., Bari, A.S.M., Islam, M.R. 2013. Detection of Egg Drop Syndrome Virus by Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Livestock Research* 3(2): 112-116.
- Bidin, Z., Lojkic, I., Mikec, M., Pokric, B. 2007. Naturally Occurring Egg Drop Syndrome Infection in Turkeys. *ACTA VET BRNO* 76: 415-421.
- Cattoli, G., Susta, L., Terregino, C., Brown, C. 2011. Newcastle disease: a review of field recognition and current methods of laboratory detection. *JVDI* 23(4): 637-656.
- Cardoso, W.M., Aguiar, F.J.L.C., Romão, J.M., Oliveira, W.F., Salles, R.P.R., Teixeira, R.S.C., Sobral, M.H.R. 2005. Effect of Associated Vaccines on the Interference between Newcastle Disease Virus and Infectious Bronchitis Virus in Broilers. *Brazilian J of Poultry Sci* 7(3): 181-184.
- (CFSPH) The Center for Food Security and Public Health. 2006. *Egg Drop Syndrome*. www.cfsph.iastate.edu.(18 Oktober 2015).
- Cho S.H., Kwon H.J., Kim T.E., Kim J.H., Yoo H.S., Park M.H., Park Y.H. & Kim S.J. (2008). Characterization of a recombinant Newcastle disease virus vaccine strain. *Clin. Vaccine Immunol.*, 15 (10), 1572–1579.
- Ditjennak. 2014. *Manual Penyakit Unggas*. Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian. Hal 36.
- Hafez M. 2011. Avian Adenoviruses Infections with Special Attention to Inclusion Body Hepatitis/ Hydropericardium Syndrome and Egg Drop Syndrome. *Pak Vet J* 31(2): 85-92.
- Hewajuli, D.A dan Dharmayanti, N.L.P.I. 2015. Peran Sistem Kekebalan Non-spesifik dan Spesifik pada Unggas terhadap Newcastle Disease. *Wartazoa* Vol. 25(3): 135-146.
- Indriani R, Dharmayanti INLP. 2013. Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI subtype H5N1. *Jurnal Biologi Indonesia* 9(1): 21-30.
- Kencana, GA.Y., Suartha, IN., Simbolon, MP., Handayani, AN., Ong, S., Syamsidar., Kusumastuti, A. 2015. Respon Antibodi Terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner* Vol 16 (2): 283-290.
- Kencana, GAY., Suartha, N., Paramita, NMAS., Handayani, AN. 2016. Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif Pada Ayam Petelur Terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner* Vol 17(2): 257-264.
- Mayahi, M., Talazadeh, F., Aslahi, H. 2013. Effect of the Commercial Mixed Live Newcastle Disease and Infectious Bronchitis Vaccines and the Use of Two Separate Vaccines Given Simultaneously on Systemic Antibody Responses. *Iranian Journal of Virology*. 7(3): 17-21
- Moomivand, H., Bassami, M.R., Faramarzi, S., Stabraghil, E., Ghaedi, A., Ghabel, H., Zarghami, A., Banaei, M. 2013. Serological and Clinical Survey of Newcastle Disease in

- Broiler Chickens of East Azarbayjan by HI Tests. *Euro J Exp Bio* 3(6):311-314.
- OIE (2012). Newcastle disease. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.14. <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online>.
- Orsi MA., Doretto Jr, L, Camillo SCA., Reischak D., Ribeiro S.A.M., Ramazzoti A., Mendonça A.O., Spilki FR., Buzinaro M.G., Ferreira HL., Arns CW. 2010. Prevalence of Newcastle Disease virus in Broiler chickens (*Gallus gallus*) in Brazil. *Brazilian J. Microbiol.* 41:349-357.
- Salihu, A.E., Joannis, T.M., Onwuliri, F.C., Ibu, J.O., Masdooq, A.A., Muazu, A., Haruna, G., Ngbede, J. 2010. Serological Evidence of Egg Drop Syndrome'1976 (EDS'76) in Free-range Chickens at Chicken Market Sites in Jos, Nigeria. *Turk. J. Vet. Anim. Sci* 34(4): 403-406.
- Saliu, O.J., Sanda, M.E., Audu, S.I. 2009. Adoption of Vaccination Against Newcastle Disease by Rural Poultry Women Farmers in the North Central Zone of Nigeria. *Int. J. Poult. Sci* 8 (5): 500-503.
- Suresh, P., Shoba, K., Rajeswar, J.J. 2013. Incidence of egg drop syndrome – 1976 in Namakkal district, Tamil Nadu, India. *Vet. World* 6(6):350-353.
- Wibowo, M.H., Amanu, S. 2010. Perbandingan Beberapa Program Vaksinasi Penyakit *Newcastle Disease* pada Ayam Buras. *J. Sain Vet. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.* 28 (1): 1-9.
- World Organization for Animal Health. 2009. *Newcastle Disease: Aetiology, Diagnosis, Prevention, and Control References, OIE Technical Disease Cards.* OIE Scientific and Technical Department, Thailand.